ских беспозвоночных после размораживания за счет синергизма их действия.

Эта работа была выполнена за счет частичной поддержки Российского фонда фундаментальных исследований (06-04-96039) и Президиума ДВО РАН (06-III-А-06-166).

ABSTRACT

Development of cryopreservation methods permits to remove of seasonal and geographic limitations in investigations on sea animals, helps to establish cryobanks of rare and disappearing species. This work deals with analysis of known cryoprotectors and the search for new substances with potential cryoprotective properties for marine invertebrates. We studied a combined effect of the cryoprotectants both of carbohydrate and lipid origin at the presence DMSO on cell viability and the RNA synthesis of frozen-thaw embryonic mollusc and echinoderm cells. Cryoprotective properties of exogenous lipids correlated with their thermotropic behavior and depended of both membrane stabilizers and bioantioxidants. These methods would be a useful tool in cell technology of marine bioactive materials.

Литература

1. Hays LM, Feeney RE, Crowe LM, Crowe JH. Interaction of antifreeze glycoproteins with liposomes. Biophys. J. 1993. 64: 8296.
2. Lane M, Maybach JM, Gardner DK. Addition of ascorbate during cryopreservation stimulates subsequent embryo development. 2002. Human Reproduction 17 (10): 2686-2693.
3. Naidenko TKh. Cryopreservation of Crassostrea gigas oocytes, embryos and larvae using antioxidant echinochrome A and antifreeze protein AFP1. 1997. Cryo-Letters 18: 375-382.
4. Odintsova NA, Kiselev KV, Sanina NM, Kostetsky EY. Cryopreservation of primary cell cultures of marine invertebrates. 2001. Cryo-Letters 22: 299-310.
5. Odintsova NA, Ageenko NV, Kiselev KV, Sanina NM, Kostetsky EY. Analysis of marine hydrobiont lipid extracts as possible cryoprotective agents. Int. J. Refrigeration, 2006. 29: 387–395.
6. Sanina NM, Kostetsky EY. Thermotropic behavior of major phospholipids from marine invertebrates: changes with warm acclimation and seasonal acclimatization. Comp. Biochem. Physiol. 2002. 133B: 143–153.
7. Sanina NM, Goncharova SN, Kostetsky EY. Fatty acid composition of individual polar lipid classes from marine macrophytes. 2004. Phytochemistry 65: 721–730.
8. Tervit HR, Adams SL, Roberts RD, McGowan LT, Pugh PA, Smith JF, Janke AR. Successful cryopreservation of Pacific oyster (Crassostrea gigas) oocytes. Cryobiology. 2005. 51(2): 142-51.

М.А. Егоров

Астраханский государственный университет (АГУ), Россия

ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ КАСПИЙСКОГО КРИОБАНКА

АННОТАЦИЯ

Астраханский государственный университет в рамках лаборатории биотехнологий ведет работу исследования, нацеленную на сохранение генома редких и исчезающих видов животных и растений Волго-Каспийского бассейна. Главная цель проекта - создание и реализация эффективной работы международного Каспийского криобанка фактическое восстановление биологического биоресурсов Каспийского бассейна, что будет способствовать реальному научно-практическому вкладу в развитие отраслей хозяйства прикаспийских государств. Исследования ведутся при поддержке Гранта Президента Российской Федерации и программы СТАРТ 06.

ANNOTATION

Astrakhan State University within the limits of the laboratory of biotechnologies is involved in research work aimed at preservation of the gene pool of rare and threatened species of fish (sturgeon and salmon), plants and animals of the Volgo-Caspian basin. The main purpose of the project is the creation and realization of effective work of the international Caspian cryobank, actual recovery of biological resourses of the Caspian region in all genetic and species diversity, which will make a significant scientific, practical and economical contribution into the development of the industries of the Caspian Sea countries. The research work is sponsored by the grant of the President of the Russian Federation aimed to support young Russian scientists and the leading scientific schools of the Russian Federation and of the program START 06.

Генотипический принцип в качестве самостоятельного способа предполагает обеспечение длительного хранения генотипов – создание генетических банков редких и исчезающих видов. Это особенно необходимо там, где исчерпаны резервы сохранения естественных популяций вида, а также там, где неконтролируемая интродукция и гибридизация ведут к утрате чистых природных популяций, к утрате генофонда [1-5].

Лаборатория биотехнологий Астраханского государственного университета ведет научно-исследовательскую работу по сохранению генофонда редких и исчезающих биообъектов Волго-Каспийского бас-

сейна. Основная цель проекта: создание и осуществление эффективной деятельности международного каспийского криобанка. Реальное восстановление биоресурсов Каспийского региона во всем их генетическом и видовом разнообразии, что внесет научно-практический и экономический вклад в развитие отраслей сельского хозяйства региона. Лаборатория биотехнологий располагает опытными специалистами (группа работает по данной тематике с 1994 года) в области низкотемпературных генетических банков и необходимыми помещениями. Исследования осуществляются на основе реализации гранта Президента Российской Федерации для поддержки молодых российских ученых и ведущих научных школ Российской Федерации по теме: «Организация Нижневолжского регионального криобанка генофонда флоры и фауны Волго-Каспийского бассейна».

В марте 2006 года коллектив лаборатории биотехнологий стал победителем программы СТАРТ 06 Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере, что позволило с мая 2006 года создать научно производственное предприятие «Каспийский криобанк» - ООО НПП «Каспийский криобанк». В рамках деятельности этого предприятия активно ведется работа по патентованию оригинальных рецептур криопротекторов и технологических приемов. Ведется поиск инвесторов для расширения производства, а также рынка сбыта собственной криопродукции в России и за рубежом.

Деятельность данного предприятия на Юге России направлена на реализацию нескольких научно-производственных направлений:

1. Исследование криопротекторных свойств различных химических соединений, используемых для замораживания и хранения клеток биообъектов.

2. Исследования по совершенствованию оригинальных криотехнологий и криопротекторов.

3. Изучение качества криогенного материала различных сроков хранения и апробация технологии замораживания-дефростации клеток.

Проект осуществляются в три этапа.

На первом этапе – организация криохранилища ограниченной емкости. Целью данного криохранилища является базовое обеспечение для организации широкомасштабных научно-исследовательских работ по отработке режимов заморозки-разморозки образцов разных видов биообъектов, подбору криопротекторов для традиционных и новых видов, обеспечение работ по поиску путей замораживания без повреждений половых продуктов гидробионтов, флоры и фауны региона.

На втором этапе – создание материально-технической базы криобанка, отработка всех этапов в полупромышленном режиме.

Третий этап предусматривает пуск криобанка и вывод его на проектную мощность, а также накопление генетического материала для научных, промышленных и коммерческих целей, с последующей реализацией.

Деятельность криобанка позволяет:

1. Сохранять генетическую информацию редких и исчезающих видов рыб, растений и элитных пород, животных Волго-Каспийского бассейна при температуре жидкого азота в течение десятилетий без утраты генетического стандарта.

2. Транспортировать (реализовывать) генетический материал в районы исчезновения или резкого сокращения численности для восстановления популяций вида или реализовывать генетический материал согласно потребностям заказчиков.

3. Обеспечивать возможности для селекционно-генетических работ в рыбоводных и сельскохозяйственных предприятиях региона.

4. Создавать достаточно полную генетическую коллекцию разных видов гидробионтов для последующего восстановления полноценной ихтиофауны бассейна и экосистем.

Разрабатываемые нами методы криоконсервации достаточно просты, аппаратурно оснащены и доступны для формирования современного криобанка, а также для широкого практического использования биологических материалов криохранилища на соответствующих предприятиях [6-8].

Литература

1. Карнаухов А.В. К вопросу об устойчивости химического состава атмосферы и теплового баланса Земли // Биофизика, Т. 39, №1, Пущино, 1994. С. 148-152.
2. Ананьев В.И. Концепция сохранения и устойчивого использования биоразнообразия с применением методов криоконсервации геномов гидробионтов // Рыбн. хоз-во. Сер. Аквакультура: Информпакет /ВНИЭРХ. 1997. Вып. 1. С. 1-36
3. Егоров М.А., Витвицкая Л.В. Использование биологически активных веществ в искусственном воспроизводстве осетровых Волго-Каспийского региона. Астрахань, АГТУ, 2002. 100 с.
4. Егоров М.А. Физиологические особенности

действия фитогормона эпибрассинолида на организм животных в раннем онтогенезе. Астрахань, АГПУ, 2002. 269 с.
5. Ананьев В.И., Андреев А.А., Голованова Т.С., Петропавлов Н.Н., Цветкова Л.И. Опыт криоконсервации спермы белорыбицы и белуги // Рыбн. хоз-во. Сер. Аквакультура: Информпакет / ВНИЭРХ. 1998. Вып. 1. С. 25-32.
6. Егоров М.А. Организация криобанка генофонда ценной флоры и фауны юга России // Ж. «Современные наукоемкие технологии». N 1. М., Академия РАЕ, 2004. С. 54-55.
7. Егоров М.А. О создании международного криобанка генофонда флоры и фауны Каспийского бассейна // Ж. «Цитология». Том 46, N 9. СПб., «Наука» РАН, 2004. С. 791-792.
8. Egorov M.A. The secret land //International Journal «Caspian Research» Book. N. 5. Baku, 2003. P. 85–88.

УДК 636.4.082.12

Л.К. Эрнст, Н.А. Волкова, П.М. Кленовицкий, Н.А. Зиновьева, Л.А. Волкова
Всероссийский Государственный научно-исследовательский институт животноводства (ВИЖ), Российская академия сельскохозяйственных наук

ВЛИЯНИЕ ИНТЕГРАЦИИ ГЕННОЙ КОНСТРУКЦИИ WAP/HGH НА ПОДДЕРЖАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА У СВИНЕЙ

Среди многих биологических проблем сохранение генетических ресурсов животных имеет особое значение. Традиционно этот вопрос понимают как решение проблемы связанных с сохранением малочисленных видов и пород животных. Однако с развитием методов направленного воздействия на геном в результате деятельности человека возникли новые генетические формы животных, проблема использования и сохранения которых, в том числе и методами ex situ, стоит не менее остро.

В ВИЖе в последние десятилетия активно ведутся работы по разведению трансгенных свиней и сохранению их генофонда (Эрнст Л.К. и др., 2002). При этом одновременно возник вопрос об оценке стабильности генома трансгенных животных. В результате обследования трансгенных животных обнаружено, что микроинъекции чужеродной ДНК обуславливают дестабилизацию генома потомства (Brem G., 1993; Кленовицкий П. М. и Некрасов А. А., 1998). Показано, что в ряде случаев трансгенез сопровождается хромосомными перестройками (Marx J.L., 1985). Повышенный уровень хромосомной изменчивости отмечен у свиней первого поколения, трансгенных по mMT1/hGRF, и кроликов, трансгенных по MCP (Zinovieva N. et al., 2001; Bagirov V.A. et al., 2003). Это свидетельствует о необходимости изучения цитогенетических последствий генно-инженерных манипуляций с животными. Не исключено, что возникновение аберрантных хромосом связано с действием экзогена, однако для окончательного заключения необходимо провести дополнительные исследования.

Цель работы изучить влияние экзогенной конструкции на состояние генома у трансгенных по WAP гену животных. Для достижения поставленной цели изучали уровень хромосомной изменчивости у трансгенных свиней и контрольных животных.

Препараты хромосом получены из 72-часовой культуры лимфоцитов по общепринятым методикам с учетом внесенных нами модификаций. При анализе кариотипа животных в культуру для получения хромосом, пригодных для анализа их дифференциальной структуры вводили 5'BrdU и бромистый этидий в дозах 20 и 15 мкг/мл на 64 и 68 часу, соответственно. Препараты окрашивали по Гимза.

Для проведения цитогенетических исследований использовали цифровую видеокамеру КС-583С (Тайвань) и программу Image Scope 1 (фирма СМА, Россия) в комплексе с программой Photoshop 5.5. Принципиальная схема анализа хромосом на основе этих программ описана нами ранее (Волкова Л.А. и др., 2004).

В опыте были исследованы три хряка 6-го поколения, трансгенные по гену соматотропина под WAP промотором. В качестве контроля служили их интактные братья и полубратья из экспериментального хозяйства ВИЖа Кленово – Чегодаево. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Из приведенных в таблице 1 данных видно, что обследованные группы живот-